

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.01.016

❖ 临床研究 ❖

急性分泌性中耳炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群与中耳积液炎症因子的相关性

崔喜财¹, 赵恒威¹, 张鲁壮¹, 宋晓洁¹, 崔凯²

(1. 辽宁中医药大学附属第四医院检验科, 辽宁 沈阳 110101; 2. 秦皇岛市工人医院普外科, 河北 秦皇岛 066200)

【摘要】目的: 分析急性分泌性中耳炎(OME)患者外周血 T 淋巴细胞亚群与中耳积液炎症因子的相关性。**方法:** 选取 122 例急性 OME 患者为病例组, 同期 100 名接受健康体检者为对照组。检测所有人员外周血 CD4⁺ T、CD8⁺ T 淋巴细胞的含量、CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值及血清白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-6、IL-10 及肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平的水平。病例组患者经耳内镜行鼓膜穿刺, 分析耳积液中上述炎症因子的水平, 并评估其与外周血 T 淋巴细胞亚群指标的相关性。**结果:** 病例组 CD4⁺ T 淋巴细胞的含量及 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值均低于对照组 ($P < 0.05$), 但 CD8⁺ T 淋巴细胞的含量高于对照组 ($P < 0.05$)。两组研究对象的血清炎症因子水平比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。病例组耳积液中的炎症因子水平均高于血清 ($P < 0.05$), 其中, IL-2、IL-4、IL-6、TNF- α 等炎症因子水平与外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞含量、CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值均呈负相关 ($P < 0.05$), 但与 CD8⁺ T 淋巴细胞含量呈正相关 ($P < 0.05$)。此外, 病例组患者耳积液中的 IL-10 水平也正相关于外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞含量及 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值 ($P < 0.05$), 但与其与 CD8⁺ T 淋巴细胞含量呈负相关 ($P < 0.05$)。**结论:** 急性 OME 患者耳积液中的炎症因子水平高于血清, 且与外周血 T 淋巴细胞亚群指标相关。

【关键词】 急性分泌性中耳炎; 外周血 T 淋巴细胞亚群; 中耳积液; 炎症因子

【中图分类号】 R764.21 **【文献标志码】** A

Correlations between T lymphocyte subgroups subsets in peripheral blood and inflammatory factors in middle ear effusion in patients bearing acute otitis media with effusion

CUI Xi-cai¹, ZHAO Heng-wei¹, ZHANG Lu-zhuang¹, SONG Xiao-jie¹, CUI Kai²

(1. Department of Laboratory Medicine, Fourth Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110101, Liaoning; 2. Department of General Surgery, Qinhuangdao Workers' Hospital, Qinhuangdao 066200, Hebei, China)

【Abstract】Objective: To analyze the correlations between T lymphocyte subsets in peripheral blood and inflammatory factors in middle ear effusion in patients bearing acute otitis media with effusion (OME). **Methods:** 122 patients with acute OME were selected as the case group, and 100 healthy people were selected as the control group. Their percentage of CD4⁺ T lymphocyte and CD8⁺ T lymphocyte, the ratio of CD4⁺/CD8⁺ T lymphocyte in the peripheral blood, and the interleukin (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-10 and tumor necrosis factor (TNF)- α in serum were detected. The patients in the case group were punctured with tympanic membrane under otoscope, the levels of inflammatory factors in middle ear effusion were analyzed and their correlations with T lymphocyte subgroups in peripheral blood were evaluated. **Results:** The percentage of CD4⁺ T lymphocyte and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ T lymphocyte in the case group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$), while their percentage of CD8⁺ T lymphocyte was notable higher than the control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the levels of serum inflammatory factors between the subjects in the two groups ($P > 0.05$). The levels of inflammatory factors in middle ear effusion of the patients in the case group were obviously higher than those in serum ($P < 0.05$), among them, the levels of IL-2, IL-4, IL-6 and TNF- α were negatively correlated with the percentage of CD4⁺ T lymphocyte and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ T lymphocyte ($P < 0.05$), but positively related to the percentage of CD8⁺ T lymphocyte ($P < 0.05$). The level of IL-10 was positively associated with the percentage of CD4⁺ T lymphocyte and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ T lymphocyte ($P < 0.05$), while it was negatively correlated with the percentage of CD8⁺ T lymphocyte ($P < 0.05$). **Conclusion:** The levels of inflammatory factors in ear effusion are significantly higher than those in serum and are correlated with the T lymphocyte subgroups indicators in peripheral blood.

基金项目: 河北省秦皇岛市科学技术研究与发展计划(201703A039)

作者简介: 崔喜财(1970-), 男, 主管检验师。E-mail: exclzysyjk@163.com

[Key words] Acute otitis media with effusion; T lymphocyte subgroups in peripheral blood; Middle ear effusion; Inflammatory factors

分泌性中耳炎(otitis media with effusion, OME)是以听力下降及中耳积液为主要临床特征的中耳非化脓性炎症性疾病,一般不表现为耳部急性感染。相关研究^[1]报道, OME 人群发病率超过 10%, 在各年龄段都可能发病,但在儿童中更为多见。大样本量的流行病学调查^[2]显示, 90% 的学龄前儿童曾罹患 OME,但多数可自行消退。根据病程不同, OME 可分为急性和慢性,病程短于 3 个月为急性 OME,如未得到及时的有效治疗则可发展为慢性 OME,进而引发中耳粘连、鼓膜萎缩硬化、听骨坏死、鼓室硬化等严重并发症,持久不愈的 OME 更是最常见的儿童致聋、语言发育迟缓原因^[3]。但是, OME 的发病机制尚未明确,尽管学术界已形成了咽鼓管功能不良、感染、免疫异常等多个病因假说,但始终未能从根源上解释 OME 的发生及进展机制,这也导致了 OME 目前在治疗上仍缺乏公认的确切方案^[4]。近年来,研究^[5]发现, OME 患者同时罹患机体免疫功能异常和中耳局部炎症损害,该两种病症在 OME 的病程中扮演着重要的角色,但两者之间是否存在关联性、治疗方案能否通过纠正机体免疫失衡来缓解病灶局部的炎症损害等问题仍亟需临床证据予以支撑。本研究分析了针对急性 OME 患者外周血 T 淋巴细胞亚群与中耳积液炎症因子的相关性,旨在阐明 OME 的发病机制,为合理制订治疗策略提供一定的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

连续选取 2017 年 2 月至 2020 年 2 月辽宁中医药大学附属第四医院收治的 122 例急性 OME 患者作为病例组,并以同期 100 例接受健康体检者为对照组。两组患者或其监护人均签署知情同意书,本研究方案经医院医学伦理委员会审核通过。

纳入标准:(1)病例组患者均符合美国耳鼻喉头颈外科学会(American academy of otolaryngology-head and neck surgery, AAO-HNS)于 2015 年更新的《分泌性中耳炎临床实践指南》中的急性 OME 诊断标准^[6],即均表现出急性发作的耳鸣、耳痛、自听过强、鼓膜变色、听力下降等临床症状及体征,耳镜检查可见鼓膜变形、活动度差、反射光锥消失、锤骨柄移位,鼓室积液较多者可见到积液平面,当头部位置改变时积液平面也随之变换,鼓膜可呈黄色或橘红色而发亮。(2)患者临床资料完整。(3)对照组患者均经临床检查排除耳部疾病。排除标准:(1)合并恶性肿瘤、重要器官功能不全、自身免疫疾病或

免疫缺陷症、血液系统疾病者;(2)入组前已接受治疗或既往有 OME 病史者;(3)入组前 1 月内有应用糖皮质激素、免疫调节药物或确诊发生全身性感染疾病者;(4)外耳道、鼓膜或中耳发育畸形或具有鼓膜穿刺检查应用禁忌者。

1.2 观察指标

1.2.1 基线资料 对两组研究对象的年龄、性别、体质指数(body mass index, BMI)、合并基础疾病、吸烟史、饮酒史等基线资料进行调查和对比。

1.2.2 外周血 T 淋巴细胞亚群及血清炎症因子 分别采用乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝管、普遍真空管采集研究对象的晨起空腹外周静脉血样本 2 mL、3 mL,对照组的采血时间为体检当日,病例组的采血时间为入院次日。抗凝血样本采用 Invitrogen Attune NxT 流式细胞仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)检测 CD4⁺ T、CD8⁺ T 淋巴细胞比例、CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值。普遍血样则在室温下静置 2 h 后,以 1 500 rpm 速度(离心半径 10 cm)离心 20 min,并通过酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA 法)分析血清中白细胞介素-2(interleukin, IL-2)、IL-4、IL-6、IL-10 及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)的水平。

1.2.3 中耳积液炎症因子 于入院次日通过耳内镜对病例组患者行鼓膜穿刺,采集 0.3 mL 中耳积液样本,并采用 ELISA 法检测 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 的水平。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。计量资料采用($\bar{x} \pm s$)形表示,符合正态分布,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以[*n*(%)]表示,样本率或构成比的组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,外周血 T 细胞亚群指标与中耳积液炎症因子水平的相关性采用 Pearson 直线相关性分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组研究对象基线资料的比较

两组研究对象基线资料的比较,差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 1。

2.2 两组研究对象外周血 T 淋巴细胞亚群和血清炎症因子的比较

病例组患者的 CD4⁺ T 淋巴细胞的含量及 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值均低于对照组(*P* >

0.05),但其 CD8⁺ T 淋巴细胞的含量却高于对照组 ($P < 0.05$)。两组研究对象的血清炎症因子水平比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 两组研究对象基线资料的比较 [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

基线资料	病例组 ($n=122$)	对照组 ($n=100$)	统计量	P 值
年龄(岁)	40.86 ± 22.26	40.52 ± 21.29	0.115	0.887
性别			0.012	0.912
男	68(55.74)	55(55.00)		
女	54(44.26)	45(45.00)		
BMI(kg/m ²)	22.12 ± 2.05	21.96 ± 1.87	0.602	0.405
糖尿病			0.025	0.873
有	13(10.66)	10(10.00)		
无	109(89.34)	90(90.00)		
高血压			0.062	0.803
有	16(13.11)	12(12.00)		
无	106(86.89)	88(88.00)		
冠心病			0.012	0.914
有	9(7.38)	7(7.00)		
无	113(92.62)	93(93.00)		
吸烟史			0.045	0.832
有	29(23.77)	25(25.00)		
无	93(76.23)	75(75.00)		
饮酒史			0.087	0.768
有	32(26.23)	28(28.00)		
无	90(73.77)	72(72.00)		

表 2 两组研究对象外周血 T 淋巴细胞亚群和血清炎症因子的比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	病例组 ($n=122$)	对照组 ($n=100$)	t 值	P 值
CD4 ⁺ (%)	35.68 ± 4.58	48.59 ± 5.62	-18.860	<0.001
CD8 ⁺ (%)	34.26 ± 5.25	22.62 ± 3.23	19.366	<0.001
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.32 ± 0.58	2.38 ± 0.61	-13.236	<0.001
IL-2(pg/mL)	5.76 ± 0.44	5.72 ± 0.29	0.781	0.226
IL-4(pg/mL)	7.06 ± 0.77	6.91 ± 0.89	1.346	0.085
IL-6(pg/mL)	4.03 ± 1.96	3.78 ± 2.21	0.893	0.119
IL-10(pg/mL)	8.12 ± 3.72	8.96 ± 3.65	-1.688	0.079
TNF-α(pg/mL)	2.95 ± 0.85	2.77 ± 0.61	1.776	0.068

2.3 病例组患者耳积液中的炎症因子水平与外周血 T 淋巴细胞亚群的相关性

病例组患者耳积液中的炎症因子水平均高于其血清中的炎症因子水平 ($P < 0.05$),见表 3。其中,IL-2、IL-4、IL-6、TNF-α 水平与外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞的含量及 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞的比值均呈负相关 ($P < 0.001$),与 CD8⁺ T 淋巴细胞比例呈正

相关 ($P < 0.001$),IL-10 水平与外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞含量及 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞的比值呈正相关 ($P < 0.001$),与 CD8⁺ T 淋巴细胞比例呈负相关 ($P < 0.001$)。见表 4。

表 3 病例组中耳积液与血清炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

指标	中耳积液水平	血清水平	t 值	P 值
IL-2	62.05 ± 33.12	5.76 ± 0.44	18.771	<0.001
IL-4	76.65 ± 36.13	7.06 ± 0.77	21.270	<0.001
IL-6	45.32 ± 15.08	4.03 ± 1.96	29.991	<0.001
IL-10	29.04 ± 12.91	8.12 ± 3.72	17.199	<0.001
TNF-α	32.22 ± 10.05	2.95 ± 0.85	32.054	<0.001

表 4 病例组患者耳积液中炎症因子的水平与外周血 T 淋巴细胞亚群的相关性

中耳积液炎症因子	CD4 ⁺ (%)		CD8 ⁺ (%)		CD4 ⁺ /CD8 ⁺	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
IL-2	-0.658	<0.001	0.552	<0.001	-0.705	<0.001
IL-4	-0.616	<0.001	0.545	<0.001	-0.688	<0.001
IL-6	-0.489	<0.001	0.507	<0.001	-0.663	<0.001
IL-10	0.618	<0.001	-0.495	<0.001	0.722	<0.001
TNF-α	-0.528	<0.001	0.428	<0.001	-0.506	<0.001

3 讨论

免疫功能失调对 OME 病程的影响较大。本研究表明,急性 OME 患者机体存在明显的免疫功能障碍,处于显著的免疫抑制状态,与刘振等研究一致^[7]。近年来,针对不同病程 OME 患者的免疫功能进行的对比分析^[8-10]显示,随着 OME 由急性向亚急性、慢性进展,患者免疫功能的损害程度逐渐升高。并且,伴有腺样体肥大的 OME 患者的腺样体中也会出现淋巴细胞含量突变和免疫功能失调。

本研究发现,虽然急性 OME 患者的血清炎症因子水平均明显升高,但病例组与对照组之间进行比较却无明显的统计学意义,提示 OME 的发病未能显著相关于全身性炎症反应。但是,相关研究^[11-13]指出,OME 患者的血清炎症因子异常水平与病情的严重程度密切相关,如合并腺样体肥大的 OME 患者的炎症损伤程度显著高于未出现腺样体肥大的 OME 患者。此外,急性 OME 患者虽然存在外周血免疫细胞的紊乱,但外周血中 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF-α、γ-干扰素等炎症因子水平未见明显改变,仅在耳积液中表达明显异常,与迟作华等^[14]研究一致。其原因可能是由于初发急性 OME 的免疫功能紊乱及其所致机体炎症损害程度明显低于慢性 OME 或合并腺样体肥大的患者,故其血清炎症因子水平变化

不够明显。

本研究还发现,急性 OME 患者耳积液中的炎症因子水平明显高于其血清中的炎症因子水平,且炎症因子的水平与外周血 T 淋巴细胞的指标相关。OME 患者耳积液的细胞学研究^[15-16]证实,患者耳积液中大量的单核-巨噬细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞等炎性细胞,多种炎症因子失衡同时出现且相互关联。此外,急性 OME 患者耳积液中的 IL-6、IL-10、TNF- α 等炎症因子过表达,其水平与患者的预后相关^[17-18],可能是由于微环境中编码炎症介质基因表达的转录因子 NF- κ B 活性增强,IL-18 等上游炎症因子通过活化 Th 细胞和 Th1/Th2 细胞功能失衡促进了一系列炎症因子的过度分泌^[19-20],而局部大量过表达的炎症因子又进一步加剧了局部免疫功能的损害和中耳积液的形成。但是,OME 患者耳积液中 TNF- α 、IL-2、IL-6、IL-10 等炎症因子的水平也会随着抗生素、糖皮质激素、黏液促排剂、手术等治疗措施的有效应用而逐渐下降^[21]。在临床治疗中,除了重视对中耳局部病灶的处理外,还应采取有效措施纠正患者机体的免疫失衡,从而提高治疗效果、改善预后。

综上所述,急性 OME 患者耳积液中炎症因子的水平明显高于血清,且与外周血 T 淋巴细胞亚群指标相关。

参考文献

[1] Principi N, Marchisio P, Esposito S. Otitis media with effusion: benefits and harms of strategies in use for treatment and prevention [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2016, 14(4): 415-423.

[2] Vanneste P, Page C. Otitis media with effusion in children: Pathophysiology, diagnosis, and treatment. A review [J]. *J Otol*, 2019, 14(2): 33-39.

[3] Gan RWC, Daniel M, Ridley M, et al. Quality of questionnaires for the assessment of otitis media with effusion in children [J]. *Clin Otolaryngol*, 2018, 43(2): 572-583.

[4] 刘玉红, 苏法仁. 分泌性中耳炎的相关发病机制及治疗研究 [J]. *中华耳科学杂志*, 2018, 16(2): 234-238.

[5] Beata ZJ, Wanda SS. Pro-inflammatory interleukins in middle ear effusions from atopic and non-atopic children with chronic otitis media with effusion [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2016, 273(6): 1369-1378.

[6] Rosenfeld RM, Shin JJ, Schwartz SR, et al. Clinical Practice Guideline: Otitis Media with Effusion (Update) [J]. *Otolaryngol Head*

Neck Surg, 2016, 154 (Suppl 1): S1-S41.

[7] 刘振, 王跃健, 肖平. 急性分泌性中耳炎调节性 T 细胞及 T 淋巴细胞亚群的分析 [J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2012, 15(1): 26-28.

[8] 余巧, 盛宏申, 郭晓静, 等. 分泌性中耳炎患者外周血 Th1Th2 细胞及 T 淋巴细胞亚群水平的表达及临床意义 [J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(6): 1103-1107.

[9] 柳荫, 杨娜. 腺样体肥大并发分泌性中耳炎儿童的淋巴细胞亚群分布 [J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(14): 2376-2379.

[10] 冯勇军, 王明婧, 吕梦颖, 等. 分泌性中耳炎患儿外周血淋巴细胞及血清细胞因子的表达及激素干预效果 [J]. *实用临床医药杂志*, 2018, 22(3): 51-55.

[11] 谢晓兴, 熊高云, 戈言平, 等. 分泌性中耳炎患者的血清及中耳积液内炎症因子和转化生长因子水平检测及其临床价值分析 [J]. *中华全科医学*, 2018, 16(9): 1449-1451, 1478.

[12] 张爱英, 史雅楠, 宋英鸾, 等. II 型固有淋巴细胞相关因子在腺样体肥大伴分泌性中耳炎的研究 [J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2018, 25(11): 591-593.

[13] 白治田, 李慧, 陈炜, 等. 分泌性中耳炎伴腺样体肥大患儿相关细胞因子的表达水平及临床意义 [J]. *西部医学*, 2018, 30(12): 1797-1800.

[14] 迟作华, 刘振, 肖平. NK 细胞及 IL-2、IL-4、IFN- γ 在上呼吸道感染诱发急性分泌性中耳炎患者的表达 [J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18(6): 973-975.

[15] Sharifian MR, Mahmoudi M, Pourmomenarabi B, et al. Correlation between Allergic Rhinitis and Otitis Media with Effusion [J]. *Iran J Otorhinolaryngol*, 2019, 31(105): 209-215.

[16] Quaranta N, Milella C, Iannuzzi L, et al. A study of the role of different forms of chronic rhinitis in the development of otitis media with effusion in children affected by adenoid hypertrophy [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2013, 77(12): 1980-1983.

[17] 迟作华, 刘振, 肖平. Tregs 及 IL-6、IL-10、TNF 在急性分泌性中耳炎患者中的变化及意义 [J]. *实用医学杂志*, 2016, 32(2): 255-257.

[18] 何善形, 张明智, 虞华. 急性分泌性中耳炎患者耳积液中肿瘤坏死因子- α 、一氧化氮、基质金属蛋白酶-2、白细胞介素-10 水平与疗效关系研究 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2019, 29(12): 1488-1490.

[19] 刘华, 赵守琴, 高占梅, 等. IL-18 对分泌性中耳炎模型大鼠中耳 IFN- γ 和 IL-4 表达的影响 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2014, 21(1): 76-80.

[20] 刘华, 赵守琴, 宋扬, 等. IL-18 对大鼠分泌性中耳炎中耳 NF- κ B 及 Th2/Th1 平衡的影响 [J]. *中华耳科学杂志*, 2013, 11(4): 607-612.

[21] 马翔宇. 分泌性中耳炎患儿手术治疗前后炎症细胞因子的变化及其临床意义 [J]. *中国全科医学*, 2014, 17(9): 1017-1020.

(收稿日期: 2020-09-06

修回日期: 2020-10-01)